Münster.1932.No/7 Med Diss.

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster (Westf.)
(Direktor: Professor Dr. Freund).

Ueber die Pharmakologie der Bernsteinsäure.

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster (Westf.)

vorgelegt von

Willy Goedel, Zahnarzt
aus Dinslaken N/rhein.

1/9/3/2

Gedruckt in der Dissertationsdruckerei Robert Kleinert, Quakenbrück.

Dekan: Professor Dr. Herzog.
Referent: Professor Dr. Freund.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Ueber die Pharmakologie der Bernsteinsäure.

Die Bernsteinsäure ist ein Intermediärprodukt, das sowohl im Kohlehydratstoffwechsel als im Eiweißstoffwechsel des tierischen Organismus gebildet wird. Sie entsteht aus Asparagin und Glutaminsäure beim Eiweißstoffwechsel, und vermutlich ist die Glutaminsäure auch das Zwischenglied, dem beispielsweise bei der Hefegärung aus Zucker die Bernsteinsäure ihre Entstehung verdankt. Sie ist in einer Reihe von Nahrungsmitteln enthalten, z. B. in saurer Milch[1]), Tomaten, Aepfeln, Johannisbeeren und anderen, ferner im Fleisch und in Organen. Ihr Nachweis in tierischen Organen, Körperflüssigkeiten und tierischen Sekreten ist mehrfach erbracht. Sie wurde von Buisine[2]) im Wollschweiß der Schafe, von Gorup[3]) in der Thymusdrüse des Kalbes und in der Schilddrüse und Milz des Rindes festgestellt. Im menschlichen Organismus wurde sie von Mac Fadyn, Nenki und Sieber[4]) im Darminhalt, von Brieger[5]) in pleuritischen Exsudaten und von Wieland und Revery[6]) in der Galle nachgewiesen. Die beiden letzteren isolierten aus 1 Liter menschlicher Leichengalle 0,5 Gramm Bernsteinsäure.

Die Mengen, in denen die Bernsteinsäure nachgewiesen worden ist, sind sehr gering und die sich daraus ergebenden Konzentrationen wohl kaum als wirksam anzusehen. Es muß aber dabei berücksichtigt werden, daß sie vermutlich in erheblich größerer Menge gebildet wird, daß aber ihre Zerstörung sehr beträchtlich ist. In allen Organen findet sich ein von Wieland als Succinodehydrase bezeichnetes Abbauferment, das von allen Dehydrasen am stabilsten ist. Unter der Einwirkung dieses Fermentes wird die Bernsteinsäure zunächst in Fumarsäure übergeführt, aus der durch Wasseranlagerung durch ein spezifisch wirkendes Ferment, die Fumarase, Aepfelsäure entsteht. Es stellt sich nach Haarmann[7]) von beiden Seiten ein Gleichgewicht ein, das bei 3,4 Teilen Aepfelsäure und 1 Teil Fumarsäure liegt. Die Aepfelsäure liefert unter erneuter Dehydrierung Oxalessigsäure, aus dieser entsteht durch C 0_2 - Abspaltung Brenztraubensäure. Die Brenztraubensäure wird beim pankreasdiabetischen und phlorizindiabetischen Tier in Zucker umgewandelt.

Bei der Bedeutung, die den intermediären Stoffwechselprodukten und ihrer physiologischen Einwirkung auf die Organfunktionen zukommt, sollten die pharmakologischen Wirkungen der Bernsteinsäure untersucht werden. Bisher liegen darüber nur vereinzelte Angaben vor. Thunberg[8]) stellt eine Steigerung der Sauerstoffaufnahme und eine Verminderung der CO_2-Abgabe am überlebenden Froschmuskel fest. Bokai[9]) und Schmiedeberg haben die Wirkung der Bernsteinsäure als Darmreiz nachgewiesen. König[10]) zeigt die Wirkung als Herzgift, ebenso Salant und Livingstone[11]), die eine mäßige Abnahme der Pulsgröße ohne Aenderung der Frequenz am isolierten Froschherzen nachgewiesen haben. Weiter fanden Salant[12]) und Mitchell eine Zunahme des Tonus am isolierten Kaninchendarm unter Einwirkung der Bernsteinsäure.

Die Aufgabe der vorliegenden Versuche war, die pharmakologische Wirkung der Bernsteinsäure weiter kennen zu lernen.

Methodik.

Die Bernsteinsäure lag in Form des Natriumsalzes vor. Zu den Versuchen werden Lösungen benutzt, die in entsprechenden Konzentrationen hergestellt wurden. Die Angabe der Dosen und Konzentrationen bezieht sich in folgendem auf die ursprünglich abgewogene Menge Natriumsuccinat. Da 1 Gramm Natriumsuccinat eine Menge von 0,73 Gramm Bernsteinsäure enthält, sind bei der Umrechnung auf Bernsteinsäure alle für Natriumsuccinat angegebenen Werte mit 0,73 zu multiplizieren.

1. Toxizität.

Feststellung der letalen Dosis an Mäusen.

An weißen Mäusen von etwa 20 g Gewicht wurden steigende Mengen subcutan injiziert. Verwandt wurde eine 25proz. Lösung. Mengen von 20—150 mg pro Maus waren ohne erkennbare Wirkung. Bei größeren Mengen von 160—200 mg verliefen von 12 Versuchen 11 tödlich. Das Vergiftungsbild nach 200 mg pro Maus war folgendes:

Unmittelbar nach der Injektion beschleunigte Atmung ohne sonstige Erscheinungen. Nach ca. 20 Minuten traten Krämpfe auf, das Tier nahm Seitenlage ein. Anscheinend Lähmung der hinteren Extremitäten, nach 2 Minuten normale Lage und vielleicht durch die Krämpfe bedingtes zitterndes Kriechen. Dieser Vorgang wiederholte sich mehrmals, bis nach ca. 60 Minuten im Anschluß an Krämpfe und Seitenlage der Tod nach Atemstillstand eintrat.

Muskelstarre wurde nicht beobachtet, das Tier befand sich im Zustande klonischer Krämpfe.

Für die Maus ergäbe sich also eine tödliche Gabe von 10 g bernsteinsaurem Natrium pro kg Maus bei subcutaner Injektion = 7,3 g Bernsteinsäure.

Feststellung der letalen Dosis am Kaninchen.

Am Kaninchen war die Giftigkeit bei intravenöser Injektion eine wesentlich höhere, was in dem hohen Zerstörungsvermögen des Organismus der Bernsteinsäure gegenüber begründet ist. Während die Menge von 1,5 g wirkungslos blieb, traten in den beiden anderen Fällen sofort nach der Injektion Krämpfe und Seitenlage ein, an die sich nach ca. 5 Minuten unmittelbar der Tod anschloß. Von einer 50proz. Lösung wurden in Mengen von 1 ccm in 5 Sekunden 6 bezw. 9 ccm injiziert. Die Tiere zeigten keine Muskelstarre. (Beim ersten Versuch mit 2,5 g pro kg Kaninchen trat außerdem ein Vorquellen des linken Bulbus ein, das sich nach Inzision als subconjunktivale Blutung herausstellte.)

Die letale Dosis beträgt also pro kg Kaninchen 2 g bernsteinsaures Natrium = 1,46 g Bernsteinsäure.

2. Wirkung auf die Körpertemperatur.

Den Verlauf der Temperaturkurve geben folgende Tabellen wieder.

Versuch 1:

Injektion von 1proz. Natriumsuccinatlösung.

Kaninchen Nr.:	1	2	3
Gewicht in g:	2380	3150	3520
Inj.-Menge in ccm:	5	10	10
Zeit n. d. Inj. in Std.:		Temperatur:	
0	39,1°	38,7°	37,6°
½	39,8°	39,2°	39,0°
1	38,0°	39,8°	39,2°
2	38,2°	39,9°	39,4°
3	39,1°	40,0°	39,4°
4	39,1°	39,8°	39,4°
6	—	39,6°	39,0°
8	—	38,6°	37,8°

Versuch 2:

Injektion von 1proz. Natriumsuccinatlösung.

Kaninchen Nr.:	1	2	3
Gewicht in g:	1970	2070	2250
Inj.-Menge in ccm:	10	10	10
Zeit n. d. Inj. in Std.:	Temperatur:		
0	38,0°	38,4°	38,4°
½	38,1°	37,8°	39,0°
1	39,0°	38,6°	39,6°
2	39,0°	38,6°	38,8°
3	38,8°	38,6°	38,8°
4	38,8°	38,6°	38,6°
6	38,6°	38,0°	38,6°

Versuch 3:

Injektion von 2proz. Natriumsuccinatlösung.

Kaninchen Nr.:	1	2
Gewicht in g:	3550	2070
Inj.-Menge in ccm:	10	10
Zeit n. d. Inj. in Std.:	Temperatur:	
0	38,6°	39,0°
½	38,4°	36,8°
1	37,6°	37,4°
2	37,0°	38,0°
3	38,0°	38,7°
4	38,2°	38,7°
6	38,4°	39,0°

Während bei Versuch 1, der gleichzeitig zur Blutzuckeruntersuchung verwandt wurde, eine 1proz. Lösung mit einfach destilliertem Wasser injiziert wurde, wurde in den zwei folgenden Versuchen eine 1- bezw. 2proz. Lösung mit doppelt destilliertem Wasser benutzt. Die starke Temperaturerhöhung bei Versuch 1 läßt darauf schließen, daß nach Freund[13]) der von Ehrlich als Ursache des Salvarsanfiebers gefundene „Wasserfehler" auch hier die Ursache ist. Die bedeutend schwächere Temperaturerhöhung bei Versuch 2 und der starke Abfall der Temperatur-

kurve bei Versuch 3 bestätigen, daß die Bernsteinsäure wie alle Krampfgifte im allgemeinen Temperaturerniedrigung bewirkt.

3. Wirkung auf den Blutzucker.

Der Verlauf der Blutzuckerkurve wurde an Kaninchen festgestellt, die 24 Stunden gehungert hatten. Nach der ersten Blutentnahme wurden 5 bezw. 10 ccm einer 1proz. Natriumsuccinatlösung injiziert und dann nach ½ Stunde und weiter nach jeder Stunde Blut entnommen. Die Ergebnisse aus drei Versuchen sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Kaninchen Nr.:	1	2	3
Gewicht in g:	2380	3150	3520
Inj.-Menge in ccm:	5	10	10
Zeit n. d. Inj. in Std.:	Blutzucker in mg%		
0	0,083	0,131	0,066
½	0,097	0,120	0,066
1	0,095	0,120	0,066
2	0,092	0,117	0,099
3	0,093	0,113	0,084
4	0,086	0,131	0,070
6	0,083	0,099	0,066
8	0,083	0,093	0,066

4. Wirkung auf den Blutdruck.

Am Kaninchen mit Urethannarkose wurde der Blutdruck in üblicher Weise aufgezeichnet und die Wirkung intravenöser Injektion von Natriumsuccinatlösung untersucht. Bis zur Menge von 200 mg blieb der Blutdruck unverändert. Bei größeren Dosen ergab sich nach einer kurzdauernden Senkung um 16—20 mm ein Anstieg des Blutdrucks um etwa 20—30 mm, der für mehrere Minuten anhielt und dann allmählich abfiel. (Siehe Kurve 1.) Bei längerer Fortsetzung der Einzelinjektionen änderte sich das Wirkungsbild am Blutdruck nicht, bis schließlich die letale Dosis erreicht wurde.

5. Wirkung auf das Gefäßpräparat.
(Nach Trendelenburg am Frosch.)

Die verschiedenen Mengen Natriumsuccinatlösung wurden jeweils in den Schlauch injiziert. Es ergaben sich bei Lösungen unter 25 mg keine wesentlichen oder keine Wirkungen, während

bei stärkeren Lösungen bis zu 100 mg eine starke Gefäßerweiterung eintrat. Die Wirkung war reversibel, nach ca. 15—20 Minuten war wieder normaler Gefäßtonus vorhanden.

6. Wirkung auf das isolierte Froschherz.

Die Versuche am Froschherzen bei Dauerdurchströmung von der Vene aus zeigten, daß die Bernsteinsäure schon in ½- bis 1proz. Lösung eine Herzschädigung ausübt, und zwar wurde zunächst die Pulshöhe geringer ohne Abnahme der Frequenz. Bei Fortsetzung der Durchströmung trat oft ein Wiederansteigen der Hubhöhe in Erscheinung. Die Pulskurve zeigte also in gewissem Maße eine Gewöhnung des Herzens an die Durchströmung (siehe Kurve 2). Bei längerer Durchströmung traten dann Pulsverlangsamung, inäquale und irreguläre Pulsationen auf, zum Teil Periodenbildung. Beim Auswaschen mit Ringerlösung war die Schädigung vollkommen reversibel. Unmittelbar nach dem Auswaschen war die Hubhöhe sogar höher als vor der Bernsteinsäureeinwirkung (s. Kurve 3). Die Versuche sind also im wesentlichen eine Bestätigung der Arbeiten von Salant und Livingstone.

7. Wirkung auf den isolierten Froschmuskel.

Zu den Versuchen wurden verwandt: M. Sartorius, m. Rectus und m. Gastrocnemius.

Der m. Sartorius zeigte bei Natriumsuccinatlösungen von 1,5 % bis 7,5 % Reizerscheinungen (Zuckungen), und schon bei 1proz. Lösung traten fibrilläre Zuckungen ein.

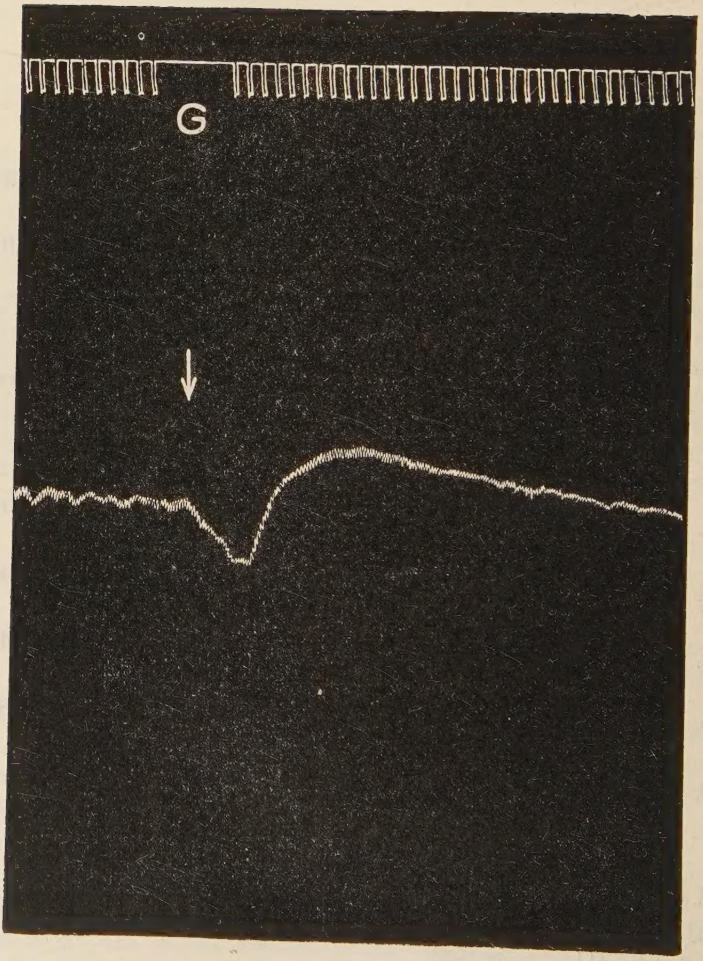
M. Rectus und m. Gastrocnemius zeigen beide bei schwächeren Lösungen bis 3 % keine Ausschläge, bei längerer Einwirkung von Lösungen über 3 % kam es zu mäßigen Graden von Dauerverkürzung.

8. Wirkung auf den isolierten Kaninchendarm.

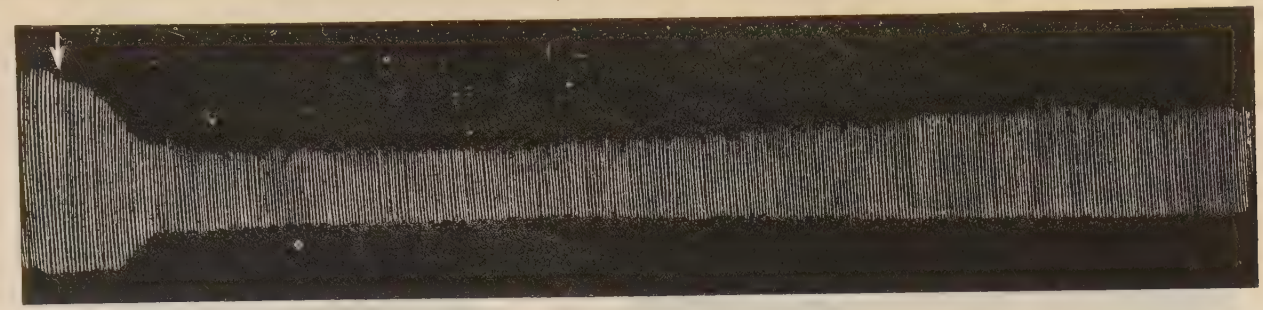
Am isolierten Dünndarm des Kaninchens bewirkten Lösungen unter 2 % eine starke Erhöhung der Peristaltik (s. Kurve 4), Lösungen über 2 % dagegen riefen eine starke Hemmung bezw. vollkommenen Stillstand der Darmbewegung hervor (s. Kurve 5). Wieweit die Wirkung auf die Darmbewegung Bedeutung gewinnen kann bei der Aufnahme bernsteinsäurehaltiger Nahrungsmittel, läßt sich aus diesen Versuchen bei der starken Abhängigkeit von den Konzentrationen nicht sagen.

Literaturverzeichnis.

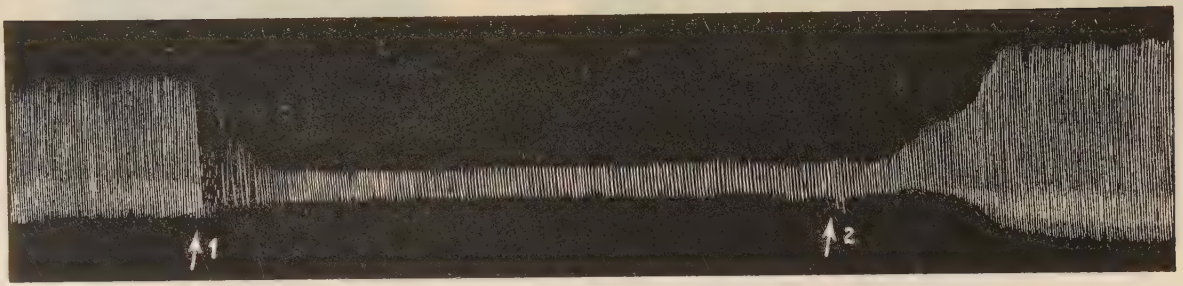
1. Biochemisches Handlexikon 1911, Bd. 1, 2. Hälfte, S. 1128.
2. Buisine: Compt. rend. de l'Acad. des Sc. 1888, Bd. 106, S. 1426.
3. Gorup: Annalen der Chemie und Pharmazie 1856, Bd. 98, S. 28.
4. Mac Fadyn, Nenki u. Sieber: Archiv f. experim. Pathol. und Pharmak. 1891, Bd. 28, S. 311.
5. Brieger: Zeitschrift für physiol. Chemie 1881, Bd. 5, S. 368.
6. Wieland u. Revery: Hoppe-Seylers Zeitschrift 1924, Bd. 140, S. 168.
7. Haarmann u. Hahn: Zeitschrift f. Biologie 1930, Bd. 89, S. 159—166. München.
8. Thunberg: Skand. Archiv f. Physiol. 1909, Bd. 22, S. 430, 1910 Bd. 24, S. 23.
9. Bokai u. Schmiedeberg: Archiv der Pharmazie 1840, Bd. 24, S. 157.
10. König: Dissertation Münster 1926, Seite 11.
11. Salant u. Livingstone: Journ. of Pharm. a. Exp. Therapeutics. 1917/1918, Bd. 10, S. 130.
12. Salant u. Mitchell: Ebenda 1917, Bd. 9, S. 524.
13. Freund: Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. 1913, Bd. 74, S. 311.



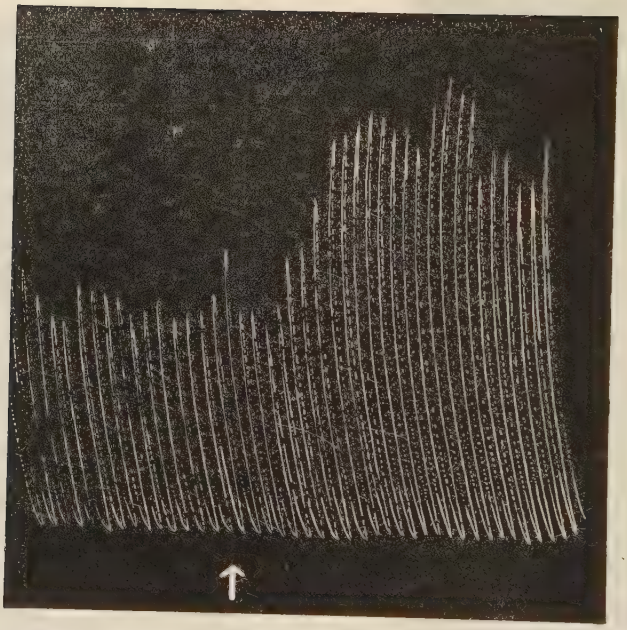
Kurve 1: Blutdruck am Kaninchen mit Urethannarkose. Bei G 1000 mg bernsteinsaures Natrium in 4 ccm.



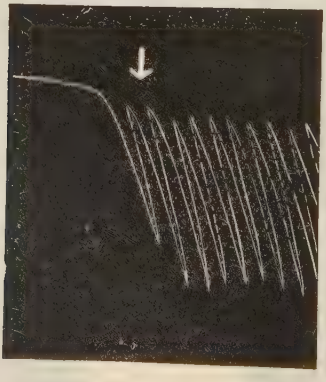
Kurve 2: Gewöhnung des Froschherzens an die Dauerdurchströmung.
Bei ↓ 1proz. Bernsteinsäure.



Kurve 3: Wirkung der Bernsteinsäure auf das Froschherz.
1proz. Bernsteinsäurelösung bei ↑ [1]. Auswaschen mit Ringerlösung bei ↑ [2].



Kurve 4: Bernsteinsäurelösung 0,207 % bei ↑



Kurve 5: 2,5proz. Bernsteinsäurelösung bei ↓.

LEBENSLAUF.

Am 25. Oktober 1907 wurde ich als Sohn des Handelsbevollmächtigten Max Goedel zu Dinslaken geboren. Nach Erlangung des Reifezeugnisses zu Ostern 1927 am Realgymnasium zu Hamborn war ich zunächst während eines Jahres als Volontär bei Zahnarzt Dr. Geisler, Dinslaken. Ostern 1928 begann ich das zahnmedizinische Studium in Bonn, wo ich zu Ostern 1930 das Vorexamen ablegte. Nach einem Sommersemester in Rostock besuchte ich ab Herbst 1930 die Universität Münster und bestand daselbst das zahnärztliche Staatsexamen im Dezember 1931.

Willy Goedel.